Maria Eduarda Bonavides Amaral

**Análise comparativa de fatores associados à má resposta à estimulação
ovariana em ciclos de fertilização in vitro**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Mestre em Ciências
Programa de Obstetrícia e Ginecologia
Orientador: Dr. Pedro Augusto Araujo
Monteleone

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2021

Maria Eduarda Bonavides Amaral

**Análise comparativa de fatores associados à má resposta à
estimulação ovariana em ciclos de fertilização in vitro**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Mestre em Ciências
Programa de Obstetrícia e Ginecologia
Orientador: Dr. Pedro Augusto Araujo
Monteleone

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Amaral, Maria Eduarda Bonavides
Análise comparativa de fatores associados à má-
resposta à estimulação ovariana em ciclos de
fertilização in vitro / Maria Eduarda Bonavides
Amaral. -- São Paulo, 2021.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientador: Pedro Augusto Araujo Monteleone.

Descritores: 1.Fertilização in vitro 2.Indução da
ovulação 3.Técnicas de reprodução assistida
4.Reprodução humana

USP/FM/DBD-294/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver). Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011. Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Adelino Amaral Silva e
Christina Maria Cavalcante Bonavides,
por me ensinarem com o exemplo.

Ao meu esposo Hugo Muscelli Alecrim,
por me incentivar e não me deixar
desistir.

Aos meus familiares e amigos, por
entenderem minhas ausências e
acreditarem em mim mesmo quando eu
duvidava.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Pedro Augusto Araújo Monteleone, orientador deste trabalho, por ter acreditado na proposta e me guiado de maneira sábia e responsável. Serei para sempre grata.

Ao Prof. Dr. Edmund Chada Baracat, professor titular da disciplina de Ginecologia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por ter aberto portas para que eu seguisse no caminho da pós-graduação, após a conclusão da residência médica na mesma instituição.

À equipe de médicos e embriologistas do Centro de Reprodução Humana Mário Covas Divisão de Clínica Ginecológica do HC-FMUSP pelo trabalho clínico e assistencial desempenhado, que possibilitou a existência dos dados coletados neste estudo.

À Lucinda Pereira, secretária da Pós-Graduação do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela colaboração na organização da qualificação e defesa dessa dissertação.

Ao Dr. Dani Ejzenberg, médico do Centro de Reprodução Humana Mário Covas Divisão da Clínica Ginecológica do HC-FMUSP pela orientação da monografia do programa de Residência Médica em Obstetrícia e Ginecologia, que serviu como semente para este trabalho.

À Sílvia Regina Mancini, da Divisão da Clínica Ginecológica do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo auxílio nas questões éticas e administrativas para possibilitar a realização do estudo.

Ao Prof. Mário Cavagna (*in memoriam*) pelas observações perspicazes e correções oportunas ao trabalho à época do exame de qualificação. Este trabalho foi realizado em meio à muitas perdas, durante uma pandemia mundial, e gostaria aqui de honrar a memória deste grande nome da Reprodução Humana no Brasil.

Aos Profs. Drs. José Maria Soares Júnior e Gustavo Rosa Arantes Maciel por aceitarem o convite a participar da banca de qualificação e agregarem ao trabalho final com suas críticas construtivas.

À Creusa Maria Dalbó, pelo auxílio com o trabalho estatístico.

À Sylvia Cortezzi, pela ajuda com a formatação da dissertação.

Às amigas da residência médica Mayra Carretti, Priscila Caldeira, Fernanda Belém, Juliana Ribeiro, Paula Deckers, Tarsila Gasparotto, Laysa Tenório, Jordana Racy e à minha companheira de apartamento Fernanda Barros Viana. Obrigada por terem sido uma família para mim quando eu estava longe de casa.

Ao Igor Castro Carneiro e Gabriella Sorgatto do Amaral, casal que me acolheu em sua casa uma semana por mês, por mais de um ano, quando estive na ponte-aérea entre Brasília e São Paulo. Vocês moram no meu coração.

À minha irmã, Manuella Bonavides Amaral, pelo apoio incondicional.

Aos casais participantes do estudo. Sem eles, nada faria sentido.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas.....	ix
Lista de Figuras	xi
Lista de Gráficos.....	xii
Lista de Tabelas.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO	
3. MÉTODOS	
3.1. Tipo de estudo	21
3.2. População	21
3.3. Seleção da população	22
3.4. Protocolo de investigação básica, estimulação ovariana e fertilização de oócitos.....	23
3.5. Coleta dos dados clínicos	25
3.6. Variáveis para análise	25
3.7. Estatística.....	27
3.8 Considerações Éticas.....	27
4. RESULTADOS	
4.1. Dados demográficos e variáveis pré-estimulação ovariana	29
4.2. Dados referentes ao ciclo de Estimulação Ovariana.....	34
4.3. Dados referentes aos desfechos pós-estimulação	39
5. DISCUSSÃO	49
6. CONCLUSÃO	53
7. REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

%	Porcentagem
BCF	Batimento cardíaco fetal
CFA	Contagem de folículos antrais
ESHRE	Sociedade Europeia de Reprodução Humana, do inglês <i>European Society of Human Reproduction and Embriology</i>
FIV	Fertilização In Vitro
FSH	Hormônio folículo estimulante, do inglês <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
rFSH	Hormônio folículo estimulante recombinante, do inglês <i>recombinant Follicle Stimulating Hormone</i>
uFSH	Hormônio folículo estimulante urinário, do inglês <i>urinary Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina, do inglês <i>Gonadotrophin releasing hormone</i>
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HAM	Hormônio Anti-Mulleriano
rHCG	Gonadotrofina coriônica humana recombinante, do inglês <i>recombinant human Chorionic Gonadotrophin</i>
uHCG	Gonadotrofina coriônica humana recombinante, do inglês <i>urinary human Chorionic Gonadotrophin</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana, do inglês <i>Human immunodeficiency virus</i>
hMG	Gonadotropina menopáusica humana, do inglês <i>Human menopausal gonadotrophin</i>
HTLV	Vírus linfotrópico da célula T humana, do inglês <i>Human T lymphotropic virus</i>
ICSI	Injeção intra-citoplasmática de espermatozóides, do inglês <i>Intracytoplasmic sperminjection</i>
IMC	índice de massa corporal
ISCA	Infertilidade sem causa aparente mm - milímetro
mUI	miliUnidade Internacional
POSEIDON	<i>Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number</i>
SPSS	Pacote estatístico para ciências sociais, do inglês <i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TSH	Hormônio estimulante da tireóide, do inglês <i>Thyroid stimulating hormone</i>
UI	Unidade Internacional

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Distribuição dos grupos do estudo.	29
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Prevalência de endometriose como fator de infertilidade por grupo de estudo.....	32
Gráfico 2. Análise de curva ROC - Idade x nascidos vivos	46
Gráfico 3. Análise de curva ROC - Contagem de folículos antrais x nascidos vivos...	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição de frequências dos procedimentos segundo o grupo de estudo.	30
Tabela 2. Variáveis demográficas de 558 ciclos de reprodução humana realizados entre 2015- 2018	31
Tabela 3. Frequências absolutas e relativas das causas de infertilidade	31
Tabela 4. Valores descritivos da concentração, motilidade, Kruger, TSH, T4 livre e Prolactina, segundo o grupo de estudo	33
Tabela 5. Frequências absolutas e relativas do tipo de ciclo e da gonadotrofina utilizada	35
Tabela 6. Frequências absolutas e relativas do tipo de ciclo e de gonadotrofina de acordo com grupo de estudo	35
Tabela 7. Valores descritivos da dose total, dias de estímulo, estradiol e endométrio, segundo o grupo de estudo	37
Tabela 8. Frequências absolutas e relativas das variáveis relativas ao trigger e a taxa de cancelamento avaliadas segundo o grupo de estudo	39
Tabela 9. Valores descritivos do oócitos aspirados, M2, M1, VG, anormal, segundo o grupo de estudo.....	40
Tabela 10. Comparações múltiplas do número de oócitos aspirados pelo teste de Dunn.	42
Tabela 11. Comparações múltiplas do número de oócitos maduros pelo teste de Dunn.	42
Tabela 12. Comparações múltiplas do número de embriões formados pelo teste de Dunn.....	43
Tabela 13. Frequências absolutas e relativas ao número de embriões transferidos, dia da transferência de embriões e presença de ciclos com congelamento embrionário por grupo de estudo.....	44
Tabela 14. Frequências absolutas e relativas das variáveis avaliadas segundo o grupo de estudo.....	45
Tabela 15. Valores descritivos da idade da mulher segundo o grupo de Nascidos vivos	33
Tabela 16. Valores descritivos da contagem de folículos antrais, segundo o grupo de nascidos vivos.	47

RESUMO

Amaral MEB. *Análise comparativa de fatores associados à má-resposta à estimulação ovariana em ciclos de fertilização in vitro* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: A má resposta ao estímulo ovariano em ciclo de fertilização in vitro têm incidência estimada em 9-24%. Os critérios utilizados para caracterizar este grupo de pacientes são diversos, dificultando a avaliação de fatores de risco, desfechos clínicos associados e a proposição de novos tratamentos. Os mais usados são os critérios de Bologna e a classificação de Poseidon. **Objetivo:** Classificar uma coorte de pacientes inférteis de acordo com os critérios de Poseidon. Comparar perfil demográfico, fatores de risco dos subgrupos e analisar as diferenças nos desfechos clínicos a partir de diferentes protocolos de estimulação. **Método:** Estudo de observacional, retrospectivo e analítico com base em levantamento de 558 ciclos de reprodução assistida realizados entre os anos 2015 e 2018 no Centro de Reprodução Humana Mário Covas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os ciclos foram subdivididos conforme os critérios de Poseidon, e foram feitas comparações entre os subgrupos e relativas a um grupo controle de pacientes que coletaram número maior ou igual a 10 óvulos no ciclo, sendo este grupo subdividido em pacientes menores de 35 anos (C1) e maiores de 35 anos (C2). **Resultados:** Os grupos 3, 4 e 2 A de Poseidon tiveram menor quantidade de óvulos recuperados. O grupo 4 teve menor quantidade de embriões formados. Os grupos 1B e C1 tiveram maior taxa de gestação clínica, não foi observada diferença na taxa de nascidos vivos provavelmente devido ao pequeno número de casos. **Conclusão:** A idade da mulher, mais que a reserva ovariana, é o principal determinante de sucesso de um ciclo de fertilização in vitro.

Descritores: Fertilização in vitro; Indução da ovulação; Técnicas de reprodução assistida; Reprodução humana.

ABSTRACT

Amaral MEB. *Comparative analysis of factors associated with poor ovarian response to stimulation in IVF cycles* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

Introduction: Poor ovarian response to stimulation in an in vitro fertilization (IVF) cycle has an estimated incidence of 9-24%. The criteria used to characterize this group of patients are heterogeneous, making it difficult to address risk factors, to determine prognosis and to propose novel treatment options. The most used diagnostic criteria are the Bologna criteria and the Poseidon classification.

Objective: To classify a cohort of infertile patients according to Poseidon criteria. To compare demographic profile, risk factors of subgroups and analyze differences in clinical outcomes from different stimulation protocols. **Method:** This is an observational, retrospective study, based on data collection from assisted reproduction cycles performed between 2015 and 2018 at a single quaternary center in Brazil. The cycles were subdivided according to Poseidon's criteria, and comparisons were made between the subgroups and relative to a control group of patients who retrieved a number greater than or equal to 10 oocytes, this group being then subdivided in patients younger than 35 years (C1) and over 35 years old (C2). **Results:** Groups 3, 4 and 2 A of Poseidon had less oocytes recovered. Group 4 had a smaller number of embryos formed. Groups 1B and C1 had a higher rate of clinical pregnancy. There was no significant difference in the rate of live births, probably due to the small number of cases. **Conclusion:** Woman's age, more than the ovarian reserve, is the main determinant of success of an in vitro fertilization cycle.

Descriptors: In vitro fertilization; Ovulation induction; Reproductive techniques assisted; Human reproduction.

1. INTRODUÇÃO

A estimulação ovariana controlada é parte fundamental do tratamento da infertilidade, permitindo o múltiplo recrutamento e maturação folicular para posterior captação de oócitos [1]. No entanto existem pacientes que apesar de submetidas a estímulo convencional com gonadotrofinas não crescem um número adequado de folículos e surpreendem com uma baixa recuperação oocitária, constituindo o grupo de pacientes má respondedoras.

A incidência de resposta inadequada à estimulação ovariana estimada na literatura varia entre 9-24% [2-4]. Porém, torna-se difícil avaliar desfechos e propor alternativas de tratamento para essa população devido à discrepância de critérios diagnósticos utilizados pelos estudos.

Em metanálise englobando ensaios clínicos randomizados sobre má respondedoras, Polyzos e cols. [5] em 2011 observaram que, entre os vários estudos de intervenção, não havia consenso na definição deste diagnóstico. Observou-se que ao termo “poor responder”, classicamente usado na literatura de língua inglesa para caracterizar as más respondedoras, muitas sinônimas se somavam, como as seguintes: *diminished ovarian reserve*, *low responders*, *poor ovarian response*. Dos 47 estudos randomizados avaliados, 41 definições diferentes de má resposta foram utilizadas. Em pesquisas diferentes de um mesmo grupo eram usadas definições distintas e nenhum dos critérios diagnósticos se repetiu em mais de 50% dos trabalhos.

A heterogeneidade entre as definições, levando a possíveis vieses, desencorajava então a realização de meta- análises dos ensaios clínicos existentes. Em 2011 o consenso de especialistas da European Human

Reproduction Society se reuniu na Itália, em Bologna, elaborando critérios diagnósticos para má resposta ovariana com base nas evidências disponíveis [6]. O intuito com a determinação de critérios diagnósticos é o aperfeiçoamento dos estudos, delimitando uma população específica para a qual as intervenções devem ser propostas e testadas.

Segundo os critérios de Bologna, o diagnóstico de má respondedora pode ser feito em pacientes que preencherem dois dos seguintes critérios:

- 1) Idade materna avançada (maior ou igual 40 anos) ou qualquer outro fator de risco para má resposta à estimulação.
- 2) Testes de reserva ovariana alterados (contagem de folículos antrais – CFA < 5-7 folículos ou hormônio anti-mulleriano HAM - < 0,5 - 1,1 ng/ml).
- 3) Antecedente de má resposta (número menor ou igual a três oócitos captados com protocolo de estimulação convencional).

Uma observação adicional acrescenta que dois episódios de má resposta à estimulação ovariana prévios são critérios suficientes, independentemente da presença de idade materna avançada ou teste de reserva ovariana alterado [6].

Após a divulgação dos critérios de Bologna houve poucas publicações que propuseram a validação dos mesmos, demonstrando uma taxa de nascidos vivos consistentemente baixa (6 a 14%) em estudos não relacionados [7-11].

Observa-se de todo modo que há baixa aceitação do critério diagnóstico na comunidade científica. Em artigo de 2018, observa-se que nos 7 primeiros anos após a publicação original apenas 50% dos estudos na área de má resposta ovariana adotavam os critérios de Bologna [12]. Dentre estes, apenas 01 estudo subdividiu as pacientes de acordo com qual critério foi utilizado para enquadrar

a paciente como má-respondedora [9].

Verifica-se que as críticas aos critérios de Bologna subdividem-se em questionamentos relacionados à ausência de avaliação da qualidade oocitária, aos valores de corte definidos para os critérios de idade e dos testes de reserva ovariana e à ausência de uma definição clara dos fatores de risco para má resposta, culminando em uma população heterogênea [13-17].

Dentre os critérios de Bologna a idade é o fator que se encontra consolidado como fortemente correlacionado tanto com a qualidade como com a quantidade dos oócitos [17]. Nos critérios adota-se a idade de 40 anos, embora exista evidência em literatura de um pior resultado em terapia de reprodução assistida a partir dos 35 anos de idade [18].

Dentre os testes de reserva ovariana, existe alguma associação demonstrada entre o HAM e qualidade oocitária, porém com nível de evidência ainda fraco [19-21]. A disparidade na força de associação entre os distintos critérios diagnósticos com pior qualidade oocitária pode determinar resultados diferentes em pacientes classificadas como má respondedoras.

De fato, a heterogeneidade entre as pacientes classificadas pelos critérios de Bologna é uma das principais críticas ao mesmo. Os valores de corte para o HAM e CFA inclusos nos critérios compreendem a uma faixa ao invés de valor de corte único discriminatório, por exemplo, refletindo uma inconsistência existente nos próprios testes de reserva ovariana [22].

Na publicação original menciona-se ainda a inclusão de pacientes com fatores de risco para má-resposta além da idade como um dos critérios diagnósticos, porém não se discrimina quais. Estudo do nosso grupo demonstrou que são diversos os fatores de risco para má resposta, tais como exposição

prévia à quimioterapia, ciclos menstruais curtos, mutações genéticas, tabagismo, exposição a químicos ambientais, endometriomas e cirurgias ovarianas prévias [23]. Um critério diagnóstico ideal deve ser simples, claro e reprodutível, de tal modo que a determinação de exatamente quais fatores de risco serão adotados é importante para tornar a população incluída no critério diagnóstico mais homogênea.

De modo a solucionar as críticas relativas à heterogeneidade das pacientes incluídas em um mesmo grupo de acordo com o critério de Bologna surgiu outra proposta de classificação das pacientes com má resposta. Em junho de 2016 foi proposta uma nova classificação de pacientes de mal prognóstico publicada na *Fertility & Sterility* pelo grupo de pesquisa POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) [24]. Este grupo propõe uma nova classificação indicativa de mal prognóstico que divide as pacientes em quatro subgrupos distintos:

- Grupo 1 (P1): Pacientes com idade < 35 anos com reserva ovariana normal (CFA $\geq$ 5, HAM $\geq$ 1.2 ng/mL) e com uma resposta menor que 10 oócitos em um ciclo de estimulação. Este grupo pode ser subdividido em:
 - 1A: menos que 4 oócitos
 - 1B: entre 4 e 9 oócitos
- Grupo 2 (P2): Pacientes com idade $\geq$ a 35 anos com parâmetros de reserva ovariana normais pré-estimulação (CFA $\geq$ 5, HAM $\geq$ 1.2 ng/mL) e com uma resposta menor que 10 oócitos a um ciclo de estimulação. Este grupo pode ser subdividido em:
 - 2A: menos que 4 oócitos
 - 2B: entre 4 e 9 oócitos
- Grupo 3 (P3): Pacientes com idade < 35 anos com parâmetros de reserva ovariana alterados pré-estimulação (CFA < 5, HAM $\leq$ 1.2 ng/mL)

- Grupo 4 (P4): Pacientes ≥ 35 anos com parâmetros de reserva ovariana alterados pré-estimulação (CFA < 5 , HAM < 1.2 ng/mL)

A delimitação de populações mais específicas permite a elaboração de protocolos de tratamento segmentados segundo a classificação da paciente. Sugere-se que existem diferenças na fisiopatologia que leva à uma má-resposta em cada um dos grupos, sendo que os grupos 1 e 2 compreenderiam um grupo de “hiporresposta” com provável resistência às gonadotrofinas, e os grupos 3 e 4 devem sua má resposta à baixa reserva ovariana.

Não está claro se os diferentes subgrupos de pacientes com mal prognóstico também diferem em suas exposições prévias, visto que a maior parte dos estudos para caracterizar fatores de risco levava somente o critério de quantidade de oócitos captados. Os critérios de POSEIDON são uma abordagem ainda muito recente ao problema. Demonstrar que os diferentes grupos de POSEIDON têm de fato mal prognóstico e são distintos entre si trás validade para essa nova classificação. Além disso, descrever e comparar o comportamento dos grupos ajudaria a determinar fatores de risco e a explicitar diferenças no tratamento e nos desfechos clínicos, levando a uma medicina reprodutiva mais objetiva e direcionada.

2. OBJETIVO

- Classificar as mulheres inférteis de mal prognóstico de acordo com os critérios de POSEIDON e comparar os grupos com relação aos desfechos dos ciclos de reprodução assistida.

3. MÉTODOS

3.1. Tipo de estudo

Estudo observacional, retrospectivo e analítico.

3.2. População

A população do estudo é composta por pacientes inférteis submetidas a tratamento de reprodução assistida no Centro de Reprodução Humana Mário Covas do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, de janeiro de 2015 a dezembro de 2018, sendo estas separadas conforme o exposto a seguir:

- **Grupo Poseidon 1 (P1):** Pacientes com idade < 35 anos com reserva ovariana normal (CFA ≥ 5) e com uma resposta menor que 10 oócitos em um ciclo de estimulação. Este grupo pode ser subdividido em:

P1A: menos que 4 oócitos

P1B: entre 4 e 9 oócitos

- **Grupo Poseidon 2 (P2):** Pacientes com idade ≥ 35 anos com parâmetros de reserva ovariana normais pré-estimulação (CFA ≥ 5) e com uma resposta menor que 10 oócitos a um ciclo de estimulação. Este grupo pode ser subdividido em:

P2A: menos que 4 oócitos

P2B: entre 4 e 9 oócitos

- **Grupo Poseidon 3 (P3):** Pacientes com idade < 35 anos com

parâmetros de reserva ovariana alterados pré-estimulação (CFA < 5)

- **Grupo Poseidon 4 (P4):** Pacientes ≥ 35 anos com parâmetros de reserva ovariana alterados pré-estimulação (CFA < 5)
- **Grupo CONTROLE [1]:** pacientes com número ≥ 10 oócitos captados e CFA ≥ 5 .

Para fins de análise secundária o grupo controle será subdividido por idade: C1 <35 anos e C2 ≥ 35 anos

3.3. Seleção da população

Critérios de Inclusão:

- Diagnóstico prévio de infertilidade em um dos cônjuges ou do casal
- Mulher com IMC entre 18 e 30 kg/m²
- Mulheres sem doenças crônicas de alto risco materno-fetal em possível gestação.

Critérios de Exclusão:

- Sorologia positiva para doenças infecciosas (HIV, HTLV, Hepatites B e C)
- Ausência de dados relativos à idade da paciente, CFA e número de oócitos recuperados, impossibilitando estratificação conforme os grupos de POSEIDON.

3.4. Protocolo de investigação básica, estimulação ovariana e fertilização de oócitos

No primeiro atendimento os casais foram submetidos a avaliação básica, com detalhamento da idade do casal, tempo de infertilidade e de fatores causais de infertilidade. Foram solicitados histerossalpingografia e exames hormonais (FSH basal, TSH, prolactina), sorologias do casal (HIV, hepatite B e C, VDRL e HTLV) e espermograma do parceiro. É rotina também a realização de ultrassonografia transvaginal para avaliação da reserva ovariana por meio da CFA. A depender do fator causal de infertilidade, exames adicionais podem ter sido solicitados.

A estimulação ovariana foi realizada conforme protocolos de avaliação e tratamento da instituição. Resumidamente, as pacientes receberam análogo de GnRH para bloqueio hipofisário, podendo ser o mesmo realizado com protocolo longo, curto (ambos com agonista de GnRH) ou protocolo antagonista. A estimulação ovariana controlada era realizada com o uso de gonadotrofinas, podendo ser do tipo FSHr, FSHu, HMG ou FSHr+FSHu, com doses variando de 100 a 300 UI/dia. A escolha do protocolo utilizado era condicionada à disponibilidade dos insumos e ao julgamento clínico do médico assistente que conduzia o caso.

As pacientes foram submetidas a ultrassonografias transvaginais para acompanhamento do desenvolvimento folicular e as doses de gonadotrofinas foram ajustadas conforme resposta ovariana. A maturação folicular final (trigger) foi realizada quando visualizados à ultrassonografia ao menos dois folículos com diâmetro ≥ 18 mm, por meio de rhCG, uhCG ou análogo de GnRH. A punção

folicular para captação de oócitos foi realizada entre 34-36h após o trigger. Após o procedimento, todos os oócitos foram submetidos a injeção intra-citoplasmática de espermatozóides (ICSI).

A qualidade embrionária foi avaliada diariamente até a transferência. Embriões de boa qualidade no terceiro dia de desenvolvimento foram aqueles apresentando 8 a 10 células simétricas, sem multinucleação e com no máximo 20% de fragmentação [25]. Para embriões cultivados até blastocisto a avaliação morfológica levou em conta o grau de expansão e o número e organização das células da massa celular interna e do trofotoderma. Foram considerados blastocistos de boa qualidade aqueles apresentando-se expandidos (grau 3 e 4), com massa celular interna graus A ou B e trofotoderma A ou B [26].

Para transferência embrionária a fresco os embriões foram colocados em cateter de transferência e depositados na cavidade uterina.

Para transferência de embriões criopreservados as pacientes receberam para o preparo endometrial 6 mg de valerato de estradiol via oral ao dia. Quando ao ultrassom era observado endométrio trilaminar com espessura ≥ 7 mm, iniciava-se conjuntamente a administração de 600mg ao dia de progesterona micronizada via vaginal. Os embriões eram descongelados, avaliados com relação à sobrevivência e, em seguida, transferidos para a cavidade uterina após o uso da progesterona pelo número de dias correspondente à idade em dias do embrião - 03 dias de progesterona para clivagem e 05 dias de progesterona para blastocisto.

Para todas as pacientes foi mantido suporte de fase lútea com 600mg de progesterona micronizada após a transferência embrionária e, para as

criotransferências, foi mantido em conjunto o uso do valerato de estradiol 6mg/dia.

A gestação bioquímica foi confirmada por medida de β HCG em 9 a 12 dias da transferência embrionária, e a gestação clínica era confirmada por ultrassonografia com presença de saco gestacional e batimento cardíaco duas semanas após a detecção do β HCG positivo. O suporte de fase lútea foi mantido até 10 semanas de idade gestacional, com desmame progressivo a partir da detecção de embrião com vitalidade.

3.5. Coleta dos dados clínicos

A seleção das pacientes e coletas dos dados clínicos e laboratoriais é realizada a partir da busca no sistema de prontuário eletrônico do Centro de Reprodução Humana Mário Covas - HCFMUSP. Alternativamente, dados complementares podem ser obtidos nos sistemas eletrônicos de laudos e exames (HCMED), além dos prontuários físicos do HCFMUSP. Foram coletadas para análise as variáveis prévias ao ciclo e do ciclo, assim como os desfechos obtidos:

3.6. Variáveis para análise

Variáveis prévias ao ciclo

- Tempo de infertilidade
- Idade do casal
- Fator de infertilidade
- Características do espermograma (Concentração de Espermatozóides/
Motilidade/ Kruger)

- Dosagens hormonais (TSH e T4L, prolactina)
- Contagem de folículos antrais

Variáveis do ciclo

- Tipo de Ciclo (Agonista/Antagonista)
- Tipo de gonadotrofina utilizada (FSH urinário ou recombinante, Menotropina - HMG).
- Dosagem total de gonadotrofina utilizada
- Dias de estímulo
- Dosagem de estradiol no dia do trigger
- Medida do endométrio no dia do trigger

Desfechos

- Número de embriões formados
- Número de embriões transferidos
- Número de embriões congelados
- Número de ciclos cancelados
- Grau de maturação oocitária
- Número de embriões congelados
- BCF positivo em ciclo fresco

- Taxa de BCF positivo por ciclo (soma dos resultados das transferências a fresco e de embriões criopreservados derivados de um mesmo estímulo).
- Taxa de nascidos vivos

3.7. Estatística

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias, desvios-padrão e quartis. Para as variáveis qualitativas calcularam-se frequências absolutas e relativas.

Para a comparação dos grupos em relação às variáveis quantitativas foi utilizado a Análise de Variância a fator com teste de Bonferroni, quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal- Wallis com teste de Dunn [27].

Para se testar a homogeneidade entre as proporções foi utilizado o teste qui-quadrado ou o teste de máxima verossimilhança [27].

O software utilizado para os cálculos foi o SPSS 17.0 for Windows. O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

3.8 Considerações Éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob o número 2.793.613 em 08/08/2018, no qual foi dispensada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se tratar de estudo retrospectivo

utilizando dados armazenados em prontuário.

4. RESULTADOS

Foi realizada a análise de 558 ciclos de fertilização in vitro realizados entre 2015 e 2018.

4.1. Dados demográficos e variáveis pré-estimulação ovariana

No período analisado no estudo, a amostra inicial foi composta por 558 ciclos de fertilização in vitro. Os grupos de estudo foram divididos em 1A (n=15), 1B (n=19), 2A(n=48), 2B (n=59), 3 (n=17), 4 (n=50), C1 (n=157), C2 (n=193) (Figura 1).

Figura 1. Distribuição dos grupos do estudo.

Na tabela abaixo apresentamos a distribuição de frequências dos procedimentos segundo o grupo de estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição de frequências dos procedimentos segundo o grupo de estudo.

GRUPO	N	%
1A	15	2,7
1B	19	3,4
2A	48	8,6
2B	59	10,6
3	17	3,0
4	50	9,0
C1	157	28,1
C2	193	34,6
Total	558	100,0

A idade das mulheres nos 558 ciclos variou de 24 a 42 anos apresentando média de 35,07 anos com desvio-padrão de 3,69 anos e mediana de 36,00 anos. A idade dos homens variou de 24 a 55 anos apresentando média de 37,51 anos com desvio-padrão de 6,09 anos e mediana de 37,00 anos. O tempo de infertilidade dos casais variou entre 0,5 e 19 anos, apresentando média de 7,04 anos com desvio padrão de 3,84 anos e mediana de 6 anos (Tabela 2).

Tabela 2. Variáveis demográficas de 558 ciclos de reprodução humana realizados entre 2015-2018.

VARIÁVEL	N	MÉDIA	DP	MÍNIMO	MÁXIMO	P25	MEDIANA	P75
Tempo de Infertilidade	551	7,04	3,84	0,50	19,00	4,00	6,00	9,00
Idade mulher	558	35,07	3,69	24,00	42,00	32,00	36,00	38,00
Idade homem	550	37,51	5,51	24,00	55,00	34,00	37,00	41,00

O fator de infertilidade mais prevalente foi o fator masculino, presente em 81,7% dos casos (Tabela 3).

Tabela 3. Frequências absolutas e relativas das causas de infertilidade.

CAUSA	N	%
Fator masculino	456	81,7
Endometriose	116	20,8
Fator uterino	112	20,1
Fator ovulatório	137	24,6
Fator tubário	203	36,4
Aborto habitual	13	2,3
ISCA	32	5,7

Na análise por grupos, observa-se que os grupos 3 e 4 apresentaram porcentagem significativamente maior de casos de endometriose quando comparados aos outros grupos. Os grupos 2A, 2B e C2 apresentam maior porcentagem de casos de fator uterino (Gráfico 1).

Gráfico 1. Prevalência de endometriose como fator de infertilidade por grupo de estudo.

Sobre as variáveis avaliadas na investigação básica de infertilidade, observa-se que não houveram diferenças nos valores dos exames hormonais TSH, T4 livre e Prolactina. Na avaliação dos parâmetros seminais o grupo C1 teve valores de concentração e motilidade significativamente menores, embora deva-se ressaltar que a média dos valores em todos os grupos se manteve dentro dos valores de normalidade (Tabela 4).

Tabela 4. Valores descritivos da concentração, motilidade, Kruger, TSH, T4 livre e Prolactina, segundo o grupo de estudo.

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍNIMO	MÁXIMO	P25	MEDIANA	P75	P*
Concentração	1A	13	52,18	40,78	0,00	108,00	1,20	58,00	94,50	<0,001
	1B	18	50,87	76,38	0,00	310,00	1,68	21,10	76,00	
	2A	29	68,00	44,71	0,00	177,00	37,50	63,00	96,00	
	2B	45	69,97	81,94	0,00	450,00	18,25	45,00	103,00	
	3	7	49,06	51,00	0,00	134,00	0,00	58,00	78,00	
	4	28	63,76	50,56	0,40	180,00	13,25	59,00	91,00	
	C1	139	38,92	52,95	0,00	228,00	0,10	7,80	68,00	
	C2	158	65,26	67,62	0,00	450,00	9,50	56,00	94,00	
Motilidade	1A	15	40,00	25,87	0,00	80,00	18,00	45,00	58,00	0,005
	1B	19	31,58	29,37	0,00	91,00	1,00	28,00	61,00	
	2A	48	40,15	22,05	0,00	85,00	24,25	42,50	56,75	
	2B	57	39,40	21,51	0,00	84,00	23,50	39,00	57,00	
	3	17	35,76	24,18	0,00	69,00	21,00	25,00	59,50	
	4	49	41,61	21,53	0,00	82,00	27,00	48,00	59,00	
	C1	157	28,85	25,75	0,00	91,00	0,00	30,00	47,00	
	C2	192	36,23	24,68	0,00	98,00	15,00	37,00	55,00	
Kruger	1A	14	1,43	1,45	0,00	5,00	0,75	1,00	2,00	0,309
	1B	19	2,32	2,94	0,00	10,00	0,00	1,00	4,00	
	2A	48	2,58	2,79	0,00	11,00	0,00	2,00	4,00	
	2B	57	1,60	1,68	0,00	6,00	0,00	1,00	3,00	
	3	17	1,59	1,87	0,00	6,00	0,00	1,00	3,00	
	4	49	2,04	2,20	0,00	7,00	0,00	1,00	4,00	
	C1	157	1,84	3,25	0,00	30,00	0,00	1,00	3,00	
	C2	191	2,50	5,57	0,00	69,00	0,00	1,00	3,00	
TSH	1A	15	2,47	1,32	1,21	5,10	1,57	1,85	3,23	0,560
	1B	19	2,10	1,21	0,66	5,78	1,23	1,90	2,70	
	2A	43	1,82	0,96	0,10	4,13	1,14	1,76	2,43	
	2B	51	2,29	1,44	0,30	7,10	1,33	1,90	3,02	
	3	15	3,16	3,47	0,04	14,50	1,16	2,00	3,40	
	4	42	2,37	1,63	0,39	8,82	1,40	1,80	2,86	
	C1	146	2,10	1,53	0,04	14,50	1,26	1,90	2,55	
	C2	169	2,30	1,36	0,14	8,97	1,41	2,07	2,82	

continua

continuação

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍNIMO	MÁXIMO	P25	MEDIANA	P75	P*
T4I	1A	14	1,19	0,17	0,93	1,49	1,03	1,19	1,33	0,781
	1B	19	1,19	0,23	0,69	1,70	1,02	1,20	1,35	
	2A	40	1,20	0,29	0,11	1,84	1,07	1,18	1,35	
	2B	51	1,20	0,18	0,90	1,76	1,07	1,19	1,34	
	3	14	1,20	0,13	0,92	1,37	1,13	1,19	1,33	
	4	32	1,17	0,21	0,82	1,81	1,03	1,15	1,32	
	C1	140	1,22	0,21	0,82	2,10	1,08	1,21	1,34	
	C2	162	1,25	0,87	0,90	12,00	1,07	1,16	1,30	
Prolactina	1A	14	13,56	8,25	7,20	37,60	8,25	10,45	17,60	0,952
	1B	17	15,76	8,99	6,80	37,40	8,27	12,80	19,80	
	2A	41	14,63	9,27	0,90	41,00	8,45	12,00	18,80	
	2B	51	14,28	9,69	5,80	70,40	8,20	13,70	17,40	
	3	16	13,95	8,32	2,11	37,60	9,43	12,15	18,33	
	4	42	15,89	9,80	5,20	41,60	8,23	11,70	21,88	
	C1	134	14,01	6,78	3,50	50,00	9,88	12,10	16,45	
	C2	152	13,78	8,32	0,90	70,40	8,70	11,80	16,68	
final										

[1] Nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

4.2. Dados referentes ao ciclo de Estimulação Ovariana

Com relação aos ciclos de estimulação ovariana controlada, o maior percentual dos ciclos utilizou bloqueio hipofisário com antagonista de GnRh e estimulação com HMG (urinária + urinária) (Tabela 5).

Tabela 5. Frequências absolutas e relativas do tipo de ciclo e da gonadotrofina utilizada.

VARIÁVEL	CLASSIFICAÇÃO	N	%
Tipo de ciclo	Longo	155	28,0
	Curto	12	2,2
	Antagonista	387	69,9
Gonadotrofina	FSHu	112	20,7
	FSHr	106	19,6
	HMG	322	59,6

O grupo 2B apresentou porcentagem significativamente maior de ciclos agonista curto comparado aos demais grupos, e os grupos C2, 3 e 4 usaram mais FSH recombinante em comparação aos demais grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Frequências absolutas e relativas do tipo de ciclo e de gonadotrofina de acordo com grupo de estudo.

de acordo com grupo de estudo.																	
Variável	Grupo																p
	1A		1B		2A		2B		3		4		C1		C2		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Tipo de ciclo																	0,044 ^(a)
Longo	2	13,3	4	21,1	18	38,3	19	32,2	4	23,5	15	31,3	32	20,4	61	31,8	
Curto	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	6,8	0	0,0	1	2,1	1	0,6	6	3,1	
Antagonista	13	86,7	15	78,9	29	61,7	36	61,0	13	76,5	32	66,7	124	79,0	125	65,1	
Gonadotrofina																	0,003 ^(a)
FSHu	2	14,3	4	21,1	11	24,4	18	31,6	3	18,8	12	25,5	25	16,1	37	19,8	
FSHr	2	14,3	0	0,0	4	8,9	7	12,3	5	31,3	10	21,3	25	16,1	53	28,3	
HMG	10	71,4	15	78,9	30	66,7	32	56,1	8	50,0	25	53,2	105	67,7	97	51,9	

Relativamente às doses, o grupo C1 apresentou dose total significativamente menor que o grupo 2B, e os demais grupos não apresentaram diferenças entre si. Não houve diferença significativa em dias de estímulo. As medidas do endométrio e os níveis de estradiol no dia do trigger do grupo 4 foram significativamente menores que a de todos os demais grupos, excetuando-se o

grupo 3 (Tabela 7).

Tabela 7. Valores descritivos da dose total, dias de estímulo, estradiol e endométrio, segundo o grupo de estudo.

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MÁXIMO	P25	MEDIANA	P75	P*
Dose Total	1A	15	2066,67	692,41	1200,00	3375,00	1350,00	2000,00	2625,00	0,022
	1B	18	1886,11	351,07	900,00	2500,00	1706,25	1912,50	2043,75	
	2A	44	2077,84	506,30	600,00	3150,00	1725,00	2025,00	2418,75	
	2B	57	2121,93	590,08	1350,00	4725,00	1650,00	2025,00	2487,50	
	3	17	2092,65	489,16	1350,00	3150,00	1725,00	2025,00	2250,00	
	4	45	2052,78	440,50	900,00	3200,00	1800,00	2000,00	2400,00	
	C1	150	1853,67	463,84	150,00	2925,00	1575,00	1800,00	2181,25	
	C2	184	1906,25	481,54	800,00	3600,00	1581,25	1912,50	2250,00	
Dias de Estímulo	1A	15	10,73	2,66	7,00	16,00	9,00	10,00	13,00	0,889
	1B	19	10,26	1,45	8,00	13,00	9,00	10,00	11,00	
	2A	46	10,22	2,18	7,00	15,00	8,00	10,00	12,00	
	2B	58	10,64	2,55	7,00	22,00	9,00	10,00	11,00	
	3	17	10,29	2,64	6,00	15,00	9,00	9,00	12,00	
	4	45	9,91	2,09	4,00	14,00	8,00	10,00	12,00	
	C1	153	10,41	1,71	7,00	17,00	9,00	10,00	12,00	
	C2	189	10,06	1,82	4,00	16,00	9,00	10,00	11,00	

continua

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MÁXIMO	P25	MEDIANA	P75	P*
Estradiol									continuação	
	1A	13	1896,36	1411,27	127,00	5308,00	911,85	1683,00	2362,00	<0,001
	1B	12	2651,04	2600,56	558,00	9879,00	1374,25	1545,50	3344,25	
	2A	36	1272,49	825,44	246,50	3860,00	599,25	1296,50	1664,25	
	2B	50	1587,65	1099,43	196,00	5782,00	937,05	1257,50	2001,50	
	3	11	1095,11	507,79	482,30	1856,00	727,00	916,00	1747,00	
	4	26	699,67	435,77	47,40	1705,00	385,75	635,60	1098,75	
	C1	132	2460,14	2243,14	71,90	15430,00	1180,00	1781,50	2866,75	
C2	155	1864,59	1628,74	107,60	12968,00	845,00	1387,00	2301,00		
Endométrio										<0,001
	1A	15	10,97	2,37	7,00	16,00	9,60	10,00	13,00	
	1B	19	10,88	2,08	7,00	16,00	10,00	10,00	13,00	
	2A	42	10,54	3,16	4,50	23,00	8,50	10,00	12,00	
	2B	58	10,42	2,96	5,00	24,00	9,00	10,00	12,00	
	3	14	9,51	1,68	7,00	13,70	8,75	9,75	10,00	
	4	40	8,52	2,41	3,00	14,00	7,00	9,00	9,85	
	C1	151	10,59	2,37	4,50	19,00	9,00	10,50	12,00	
C2	184	10,46	2,73	5,00	20,00	8,50	10,00	12,00		
final										

Do total, quatrocentos e cinquenta e sete (86,4%) ciclos fizeram trigger com HCG e 72 (13,6%) com agonista de GnRh. Os grupos 2A, 2B, 3 e 4 apresentaram menor proporção de ciclos com trigger agonista. Dezoito (3,2%) procedimentos tiveram o ciclo cancelado, sendo que os grupos 3 e 4 apresentaram percentual significativamente maior de cancelamentos (Tabela 8).

Tabela 8. Frequências absolutas e relativas das variáveis relativas ao trigger e a taxa de cancelamento avaliadas segundo o grupo de estudo.

GRUPO																	
Variável	1A		1B		2A		2B		3		4		C1		C2		p
	N	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Trigger																	<0,001 (2)
HCG	12	80,0	14	77,8	44	97,8	53	93,0	13	100	40	100	119	77,8	162	86,2	
Agonista de GnRh	3	20,0	4	22,2	1	2,2	4	7,0	0	0,0	0	0,0	34	22,2	26	13,8	
Ciclo																	<0,001 (2)
Cancelado	0	0,0	0	0,0	2	4,2	0	0,0	2	12,5	9	18,0	1	0,6	4	2,1	

(1) Nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado

(2) Nível descritivo de probabilidade do teste de verossimilhança

4.3. Dados referentes aos desfechos pós-estimulação

Os oócitos coletados foram classificados de acordo com seu grau de maturidade, sendo o oócito MII considerado oócito maduro. Os grupos 3, 4 e 2A tiveram número de óvulos totais e de óvulos maduros recuperados significativamente menor que os grupos controle, pareados de acordo com a faixa etária. Para os grupos 1A, 1B, 2B não foi observada diferença significativa. Com relação ao número de embriões formados, o grupo 4 teve número

significativamente menor que os grupos 2B e C1 (Tabelas 9 a 12).

Tabela 9. Valores descritivos do oócitos aspirados, M2, M1, VG, anormal, segundo o grupo de estudo.

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MÁX	P25	MEDIANA	P75	P
Oócitos aspirados	1 A	15	9,47	10,00	0,00	35,00	2,00	5,00	16,00	<0,001
	1B	19	8,42	5,11	3,00	18,00	4,00	7,00	12,00	
	2 A	46	4,22	2,81	0,00	13,00	2,00	3,50	6,00	
	2B	59	7,03	4,86	0,00	22,00	4,00	6,00	9,00	
	3	14	4,00	3,37	0,00	13,00	2,00	3,00	6,00	
	4	41	2,98	2,33	0,00	10,00	1,00	2,00	5,00	
	C1	156	10,99	8,31	0,00	48,00	5,00	9,00	14,75	
	C2	189	8,76	7,16	0,00	45,00	4,00	7,00	12,00	
M2	1 A	14	7,14	8,96	0,00	30,00	1,00	3,00	10,50	<0,001
	1B	19	6,53	4,15	2,00	14,00	3,00	5,00	9,00	
	2 A	46	3,33	2,22	0,00	13,00	2,00	3,00	5,00	
	2B	56	5,70	3,85	0,00	17,00	3,00	4,00	8,00	
	3	14	2,93	2,53	0,00	9,00	1,00	2,00	4,50	
	4	41	2,41	2,00	0,00	8,00	1,00	2,00	4,00	
	C1	156	8,67	6,56	0,00	33,00	4,00	7,00	13,00	
	C2	189	6,78	5,34	0,00	32,00	3,00	6,00	9,00	
M1	1A	14	0,50	0,65	0,00	2,00	0,00	0,00	1,00	0,001
	1B	19	0,05	0,23	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	
	2A	45	0,27	0,50	0,00	2,00	0,00	0,00	0,50	
	2B	56	0,34	0,72	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	
	3	14	0,36	0,84	0,00	3,00	0,00	0,00	0,25	
	4	40	0,13	0,40	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	
	C1	156	0,72	1,26	0,00	9,00	0,00	0,00	1,00	
	C2	189	0,57	1,62	0,00	20,00	0,00	0,00	1,00	

continua

Tabela 10. Comparações múltiplas do número de oócitos aspirados pelo teste de Dunn.

	1A	1B	2A	2B	3	4	C1
1B	ns						
2A	ns	ns					
2B	ns	ns	ns				
3	ns	ns	ns	ns			
4	ns	$p < 0,05$	ns	$p < 0,05$	ns		
C1	ns	ns	$p < 0,05$	ns	$p < 0,05$	$p < 0,05$	
C2	ns	ns	$p < 0,05$	ns	ns	$p < 0,05$	ns

Tabela 11. Comparações múltiplas do número de oócitos maduros pelo teste de Dunn.

	1A	1B	2A	2B	3	4	C1
1B	ns						
2A	ns	ns					
2B	ns	ns	ns				
3	ns	ns	ns	ns			
4	ns	$p < 0,05$	ns	$p < 0,05$	ns		
C1	ns	ns	$p < 0,05$	ns	$p < 0,05$	$p < 0,05$	
C2	ns	ns	$p < 0,05$	ns	ns	$p < 0,05$	ns

Tabela 12. Comparações múltiplas do número de embriões formados pelo teste de Dunn.

	1A	1B	2A	2B	3	4	C1
1B	ns						
2A	ns	ns					
2B	ns	ns	ns				
3	ns	ns	ns	ns			
4	ns	ns	ns	p<0,0 5	ns		
C1	ns	ns	ns	ns	ns	p<0,0 5	
C2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Não houve diferença significativa entre os grupos comparando o número de embriões transferidos ou o dia da transferência. Os grupos 1A, 2B, C1 e C2 tiveram maior percentual de embriões congelados (Tabela 13).

Tabela 13. Frequências absolutas e relativas ao número de embriões transferidos, dia da transferência de embriões e presença de ciclos com congelamento embrionário por grupo de estudo.

GRUPO																	
Variável	1ª		1B		2A		2B		3		4		C1		C2		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Embriões transferidos																	0,099 ⁽¹⁾
0	5	33,3	6	31,6	13	28,3	14	24,6	4	30,8	9	23,7	70	45,2	66	36,3	
1	3	20,0	1	5,3	9	19,6	4	7,0	3	23,1	11	28,9	16	10,3	27	14,8	
2	7	46,7	12	63,2	24	52,2	38	66,7	6	46,2	18	47,4	69	44,5	89	48,9	
3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Dias de transferência																	0,207 ⁽¹⁾
2	0	0,0	0	0,0	3	8,6	0	0,0	0	0,0	1	3,4	2	2,4	1	0,9	
3	3	30,0	7	63,6	23	65,7	27	62,8	6	60,0	21	72,4	45	53,6	71	60,7	
5	7	70,0	4	36,4	9	25,7	16	37,2	4	40,0	7	24,1	37	44,0	45	38,5	
Embriões Congelados	7	53,8	6	31,6	11	28,2	27	52,9	5	45,5	9	28,1	80	55,9	95	56,9	0,002 ⁽¹⁾

(1) Nível descritivo de probabilidade do teste de verossimilhança

Ao analisar o desfecho BCF, observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos na avaliação por transferências a fresco, porém ao avaliar a taxa de BCF acumulado (somando as transferências a fresco com as transferências de embrião congelado), os grupos 1B e C1 apresentam maiores porcentagens em comparação aos demais grupos. Não houve diferença significativa nas taxas de nascidos vivos entre os grupos (Tabela 14).

Tabela 14. Frequências absolutas e relativas das variáveis avaliadas segundo o grupo de estudo.

GRUPO																	
Variável	1A		1B		2A		2B		3		4		C1		C2		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
BCF	1	10,0	2	15,4	4	11,8	8	18,6	3	30,0	4	15,4	23	26,7	29	25,0	0,502 ⁽¹⁾
BCF acumulado	3	20,0	5	31,3	4	9,5	9	18,0	3	20,0	5	13,2	45	33,6	45	25,9	0,028 ⁽¹⁾
Nascido Vivo	3	20,0	4	26,7	3	7,3	6	12,5	2	14,3	5	13,2	27	22,9	31	18,5	0,361 ⁽²⁾

(1) Nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado

(2) Nível descritivo de probabilidade do teste de verossimilhança

Foi avaliada a relação entre o desfecho nascidos vivos e a variável idade da mulher, observando-se que os ciclos com nascidos vivos apresentaram diferença significativa com relação à idade (Tabela 15).

Tabela 15. Valores descritivos da idade da mulher segundo o grupo de Nascidos vivos

NASCIDOS VIVOS	IDADE					
	N	MÉDIA	DP	MÍN	MÁX	P
Não	377	35,34	3,57	24,00	42,00	0,010
Sim	81	34,32	3,49	26,00	42,00	

[1] nível descritivo de probabilidade do teste t de Student

Foi traçada uma curva ROC, avaliando que a idade de 35 anos é o ponto de corte a ser adotado com melhor perfil de sensibilidade (59,3%) e especificidade (55,2%) para predição de nascidos vivos (Gráfico 2), com acurácia de 55,9%, valor preditivo positivo de 22,2% e valor preditivo negativo de 86,3%.

Gráfico 2. Análise de curva ROC - Idade x nascidos vivos.

Pelo teste qui-quadrado observamos que há diferença significativa do desfecho nascidos vivos em relação a idade da mulher, com ponto de corte de 35 anos ($p=0,018$).

Para a variável contagem de folículos antrais, não houve diferença significativa ao se comparar os grupos que tiveram nascidos vivos e os que não tiveram. Ao traçar uma curva ROC, o valor que se aproxima da significância e com tendência a ser adotado como ponto discriminativo de corte é 10 (Tabela 16) (Gráfico 3).

Tabela 16. Valores descritivos da contagem de folículos antrais, segundo o grupo de nascidos vivos.

NASCIDO	N	MÉDIA	DP	MÍN	MÁX	P25	MEDIANA	P75	P*
VIVO									
Não	377	11,53	7,89	0,00	49,00	6,00	10,00	14,00	0,088
Sim	81	12,93	8,17	3,00	45,00	7,00	11,00	15,50	

[1] nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

Gráfico 3. Análise de curva ROC - Contagem de folículos antrais x nascidos vivos.

Através da curva ROC foi selecionado como ponto de corte do AFC o valor 10. Esse valor não alcançou significância estatística pelo teste qui-quadrado ($p=0,060$).

Para predição de nascidos vivos adotar o valor de 10 para contagem de folículos antrais apresenta uma sensibilidade de 59,2%, especificidade de

52,3%, valor preditivo positivo de 21,1%, valor preditivo negativo de 85,7% e acurácia de 53,5%

5. DISCUSSÃO

O manejo de pacientes com baixa reserva ovariana e baixa resposta é um desafio. Ao nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo brasileiro a comparar desfechos clínicos de grupos de pacientes submetidos a fertilização in vitro estratificados de acordo com os critérios de POSEIDON.

Existem alguns poucos estudos no mundo publicados comparando os grupos de mal prognóstico de POSEIDON. Leijdekkers et al. em 2019 avaliou 551 pacientes de mau prognóstico classificadas de acordo com POSEIDON, tendo como desfecho principal a taxa cumulativa de nascidos vivos por paciente ao longo de 18 meses de tratamento, incluindo múltiplos ciclos iniciados [28]. Nessa análise o autor constata que não houve diferença entre os grupos de pacientes jovens com resposta ruim inesperada no primeiro ciclo comparadas a um grupo controle ao longo do tempo, diferentemente dos grupos com idade avançada. Dessa forma, o estudo avalia que a qualidade ovular determinada pela idade materna é mais relevante que o número de óvulos, o qual por sua vez não teria impacto relevante no grupo de pacientes jovens [28].

De forma semelhante, Wu et al. em 2020 avaliou a taxa cumulativa de nascidos vivos de 461 pacientes em até 03 ciclos de tratamento, totalizando 825 ciclos de FIV. Os grupos 1 e 3, compostos por pacientes jovens, apresentaram boas chances de nascidos vivos ao final de 03 ciclos (77% e 51%, respectivamente). Em contrapartida, o grupo 4 é o que apresenta o pior prognóstico, totalizando uma taxa cumulativa de nascidos vivos de 22,34% ao final de 03 ciclos [29]

O grupo autor da classificação de POSEIDON criticou este tipo de

abordagem por avaliar que o melhor desfecho para fins de comparação dos grupos seria a taxa cumulativa de nascidos vivos por ciclo único conforme descrito pelo Comitê Internacional para Monitorização da Tecnologia Reprodutiva Assistida (ICMART) e Organização Mundial da Saúde (OMS) [30, 31]. Por definição, o ICMART considera “Taxa de parto cumulativa com ao menos um nascido vivo” como “número estimado de partos com ao menos um nascido vivo resultando de um ciclo de TRA iniciado ou aspirado, incluindo o ciclo quando foram transferidos embriões frescos e subsequentes ciclos de embriões congelados/descongelados” [31].

Estudos de coorte recentes exploraram este desfecho por ciclo, observando diferença significativa entre os grupos de POSEIDON quando comparados a um controle. Li et. al em 2019 avaliaram retrospectivamente 26.697 ciclos de FIV, observando nos grupos 1, 2, 3 e 4 de POSEIDON as taxas cumulativas de nascidos vivos de um ciclo de 56.04, 30.85, 14.73 e 6.58%, respectivamente, avaliando a baixa reserva ovariana como sendo um fator determinante para um pior prognóstico [32]. Shi et al. em 2019 avaliaram retrospectivamente 18,455 ciclos de FIV comparando os grupos de POSEIDON entre si e com um grupo controle. Nesse estudo, os grupos de POSEIDON apresentavam uma taxa de nascidos vivos de 44,6%, 24,5%, 35,5% e 12,7% respectivamente conforme os grupos 1, 2, 3 e 4 [33].

No presente estudo comparamos os resultados de nascidos vivos por ciclo iniciado, ao invés da taxa cumulativa de múltiplos ciclos de tratamento ao longo de um período determinado de tempo ou da taxa cumulativa de nascidos vivos considerando apenas ciclos com formação de embrião, excluindo os

cancelamentos. Consideramos que esse é o desfecho que melhor se relaciona com a prática clínica em países onde o tratamento é limitado por questões financeiras, como o Brasil. Nesse caso, quando os pacientes são privados há o ônus do casal custear o tratamento, e em serviços públicos como o CRH-HCFMUSP, existem restrições orçamentárias que impõem um limite de tentativas por casal. De tal modo, o resultado de um ciclo isoladamente acaba sendo mais relevante que avaliar resultados acumulados de mais de um ciclo. Em muitos casos, não haverá chance para outra tentativa.

Como limitação do estudo, podemos citar o fato de ser uma análise retrospectiva. Em contrapartida, é um estudo com maior validade externa, simulando o que de fato ocorre na prática clínica. Os grupos não são homogêneos em fatores já esperados, como por exemplo o fato de os grupos de baixa reserva ovariana (3 e 4) terem mais casos de endometriose. Embora tenha se observado maior número de casos com uso de FSH recombinante nos grupos C2, 3 e 4; deve ser ressaltado que no CRH HCFMUSP a escolha das gonadotrofinas se baseia amplamente em qual estivera disponível para uso no período de tempo no qual o ciclo foi feito, sendo que tal observação ocorreu de forma randômica e sem significância clínica.

O presente estudo avalia que a idade da paciente é o fator mais relevante para avaliação prognóstica de uma paciente ao iniciar um ciclo de reprodução assistida. O grupo 4 apresenta o menor número de óvulos e embriões formados. Já com relação a BCF acumulado os grupos 2 e 4 apresentaram menor número e, embora não tenha alcançado significância estatística, apresentaram também menores taxas de nascidos vivos.

De tal modo, o estudo levanta a suspeita de que o fator que realmente se

associa a uma pior taxa de nascidos vivos de maneira determinante é sobretudo a idade da mulher. Ao traçar a curva ROC para relação com taxa acumulada de nascidos vivos, observa-se que há diferença significativa relativa à idade, sendo o melhor ponto de corte a ser adotado o de 35 anos. Tal análise é concordante com os critérios de POSEIDON, em contraposição ao antigo critério de Bologna que estabelecia a idade de 40 anos como ponto de corte.

Ao traçar curva ROC semelhante para avaliar a relação entre contagem de folículos antrais e taxa acumulada de nascidos vivos não foi observada diferença de acordo com a reserva ovariana. De toda forma, o valor que se aproximou mais à significância estatística foi o corte de 10 folículos antrais.

Embora os grupos de POSEIDON avaliem para classificação de baixa reserva como sendo a contagem menor que 5 folículos antrais, faz sentido questionar esse critério, haja visto que pacientes que respondem com menos de 10 óvulos são classificadas pelo mesmo grupo como hiporrespondedoras.

6. CONCLUSÃO

Os grupos de POSEIDON diferem entre si. Pacientes jovens com ciclo anterior com baixa resposta (grupos 1A e 1B) apresentam resultados de BCF acumulado e taxa de nascidos vivos similares aos do grupo controle em um segundo ciclo. Já as pacientes com idade avançada (grupos 2 e 4) são as de pior prognóstico.

A idade da mulher, mais que a reserva ovariana, é o principal fator de mau prognóstico em ciclos de fertilização in vitro.

7. REFERÊNCIAS

1. Leon Speroff MAF. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
2. Ben-Rafael Z, Bider D, Dan U, Zolti M, Levran D, Mashiach S. Combined gonadotropin releasing hormone agonist/human menopausal gonadotropin therapy (GnRH-a/hMG) in normal, high, and poor responders to hMG. *J In VitroFert Embryo Transf.* 1991;8(1):33-6.
3. Jenkins JM, Davies DW, Devonport H, Anthony FW, Gadd SC, Watson RH, et al. Comparison of 'poor' responders with 'good' responders using a standard buserelin/human menopausal gonadotrophin regime for in-vitro fertilization. *HumReprod.* 1991;6(7):918-21.
4. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril.* 2000;73(4):667-76.
5. Polyzos NP, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? *Fertil Steril.* 2011;96(5):1058-61 e7.
6. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1616-24.
7. Busnelli A, Papaleo E, Del Prato D, La Vecchia I, Iachini E, Paffoni A, et al. A retrospective evaluation of prognosis and cost-effectiveness of IVF in poor responders according to the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2015;30(2):315-22.
8. Chai J, Lee VC, Yeung TW, Li HW, Ho PC, Ng EH. Live birth and cumulative live birth rates in expected poor ovarian responders defined by the Bologna criteria following IVF/ICSI treatment. *PLoS One.* 2015;10(3):e0119149.
9. La Marca A, Grisendi V, Giulini S, Sighinolfi G, Tirelli A, Argento C, et al. Livebirth rates in the different combinations of the Bologna criteria poor ovarian responders: a validation study. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32(6):931-7.
10. Polyzos NP, Nwoye M, Corona R, Blockeel C, Stoop D, Haentjens P, et al. Live birth rates in Bologna poor responders treated with ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(4):469-74.
11. Yakin K, Oktem O, Balaban B, Urman B. Bologna criteria are predictive for ovarian response and live birth in subsequent ovarian stimulation cycles. *Arch Gynecol Obstet.* 2019;299(2):571-7.
12. Boza A, Oguz SY, Misirlioglu S, Yakin K, Urman B. Utilization of the Bologna criteria: a promise unfulfilled? A review of published and unpublished/ongoing trials. *Fertil Steril.* 2018;109(1):104-9 e2.

13. Ferraretti AP, Gianaroli L. The Bologna criteria for the definition of poor ovarian responders: is there a need for revision? *Hum Reprod.* 2014;29(9):1842-5.
14. Papathanasiou A. Implementing the ESHRE 'poor responder' criteria in research studies: methodological implications. *Hum Reprod.* 2014;29(9):1835-8.
15. Venetis CA. The Bologna criteria for poor ovarian response: the good, the bad and the way forward. *Hum Reprod.* 2014;29(9):1839-41.
16. Younis JS. The Bologna criteria for poor ovarian response; has the job been accomplished? *Hum Reprod.* 2012;27(6):1874-5; author reply 5-6.
17. Younis JS, Ben-Ami M, Ben-Shlomo I. The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal. *J Ovarian Res.* 2015;8:76.
18. Nelson SM, Lawlor DA. Predicting live birth, preterm delivery, and low birth weight in infants born from in vitro fertilisation: a prospective study of 144,018 treatment cycles. *PLoS Med.* 2011;8(1):e1000386.
19. Borges E, Braga D, Setti A, Figueira RC, Iaconelli A, Jr. The predictive value of serum concentrations of anti-Mullerian hormone for oocyte quality, fertilization, and implantation. *JBRA Assist Reprod.* 2017;21(3):176-82.
20. Lehmann P, Velez MP, Saumet J, Lapensee L, Jamal W, Bissonnette F, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH): a reliable biomarker of oocyte quality in IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(4):493-8.
21. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril.* 2013;99(4):963-9.
22. Iliodromiti S, Kelsey TW, Wu O, Anderson RA, Nelson SM. The predictive accuracy of anti-Mullerian hormone for live birth after assisted conception: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):560-70.
23. Amaral MEB, Ejzenberg D, Wajman DS, Monteleone PAA, Serafini P, Soares JM, Jr., et al. Risk factors for inadequate response to ovarian stimulation in assisted reproduction cycles: systematic review. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(1):19-28.
24. Poseidon G, Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, et al. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertil Steril.* 2016;105(6):1452-3.
25. Veeck L. *An Atlas of Human Gametes and Conceptuses. An Illustrated Reference for Assisted Reproductive Technology.* New York: Parthenon Pub. Group; 1999.
26. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2000;73(6):1155-8.
27. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics* Boston: PWS Publishers; 1986.
28. Leijdekkers JA, Eijkemans MJC, van Tilborg TC, Oudshoorn SC, van Golde

- RJT, Hoek A, et al. Cumulative live birth rates in low-prognosis women. *Hum Reprod*. 2019;34(6):1030-41.
29. Abdullah RK, Liu N, Zhao Y, Shuang Y, Shen Z, Zeng H, et al. Cumulative live- birth, perinatal and obstetric outcomes for POSEIDON groups after IVF/ICSI cycles: a single-center retrospective study. *Sci Rep*. 2020;10(1):11822.
 30. Roque M, Haahr T, Esteves SC, Humaidan P. The POSEIDON stratification - moving from poor ovarian response to low prognosis. *JBRA Assist Reprod*. 2020.
 31. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril*. 2017;108(3):393-406.
 32. Li Y, Li X, Yang X, Cai S, Lu G, Lin G, et al. Cumulative Live Birth Rates in Low Prognosis Patients According to the POSEIDON Criteria: An Analysis of 26,697 Cycles of in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:642.
 33. Shi W, Zhou H, Tian L, Zhao Z, Zhang W, Shi J. Cumulative Live Birth Rates of Good and Low Prognosis Patients According to POSEIDON Criteria: A Single Center Analysis of 18,455 Treatment Cycles. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:409.